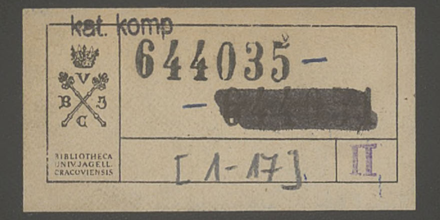


Dr. Justyn Karliński

1891-96


V
B J
C





Abdruck
aus dem
CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung:
Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

In Verbindung mit

Geh. Rat Prof. Dr. Leuckart, Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler
in Leipzig und in Greifswald

Professor Dr. R. Pfeiffer
in Berlin

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

XX. Band. 1896.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung:

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

In Verbindung mit

Geh. Rat Prof. Dr. Leuckart, in Leipzig und **Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler** in Greifswald

Professor Dr. R. Pfeiffer in Berlin

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Das „Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten“, welches seit dem Jahre 1887 erscheint, und an welchem die hervorragendsten Forscher des In- und Auslandes ihre Mitwirkung bethätigt haben, will den augenblicklichen Stand der theoretischen und praktischen Forschungen auf dem Gesamtgebiete der Bakteriologie und Parasitenkunde,

Fortsetzung auf Seite 3 des Umschlags.

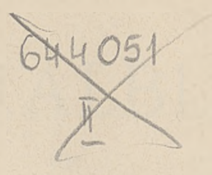
Abdruck aus dem

Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

I. Abteilung.

Herausgeg. von Dr. O. Uhlworm in Cassel. — Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XX. Band. 1896. No. 4/5.





Die Vibrioneninfektion per os bei jungen Tieren.

Von

Dr. **Justyn Karliński,**

K. und K. Regimentsarzt i. d. R.

Seit einer Reihe von Jahren mit Versuchen über die Frage nach der Möglichkeit der Uebertragung der Cholera auf Tiere beschäftigt, bin ich zu gewissen Resultaten gelangt, deren Veröffentlichung angesichts der an dieser Stelle erschienenen zwei Publikationen des Herrn Regimentsarztes Dr. E. Wiener[1]) mir als geboten erscheint, wobei ich ausdrücklich bemerke, daß ich keinesfalls beabsichtige, einen

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. 1896. No. 6/7 und 16/17.

Prioritätsstreit, welchen ich im ernsten wissenschaftlichen Streben verabscheue, hervorzurufen.

Meine Versuche datieren vom Jahre 1890 und ich verwendete damals die Cholerakultur, welche ich, wie dies aus meiner Publikation „Zur Kenntnis der Tenacität der Choleravibrionen“[1]) hervorgeht, aus den direkt aus Lahore in Indien mir zugeschickten Dejektionen, trotzdem ein 28-tägiger Zeitraum zwischen Entnahme und der Gewinnung von Reinkultur verstrich, gezüchtet habe. Erst im September 1890 konnte ich die Pathogenität der gewonnenen Cholerakulturen an Meerschweinchen erproben, und damals tötete 0,5 ccm einer 2-tägigen, bei 37° C gehaltenen Bouillonkultur ein Meerschweinchen von 380 g innerhalb 31 Stunden bei intraperitonealer Anwendung. Nach der jetzigen Anschauung war die Virulenz somit eine ziemlich geringe, umsomehr, als 0,5 ccm als Dosis letalis minima erhoben wurde. Mit dieser Kultur unternahm ich Fütterungsversuche bei jungen Hunden. Am 12. September 1890 gebar eine Pintscherhündin 8 gesunde Junge, ging jedoch am nächsten Tage an Gebärmutterblutung zu Grunde. Ich habe mir Mühe gegeben, die verwaisten Jungen künstlich aufzuziehen, indem ich denselben den mit verdünnter Kuhmilch benetzten Finger so lange über die Lippen strich, bis ich die Saugbewegungen auslöste. Sobald die jungen Tiere an dem mit Milch benetzten Finger mit Saugen anfingen, ersetzte ich den Finger durch kleine Saugflaschen, welche mit verdünnter Kuhmilch gefüllt waren. Vom dritten Lebenstage an substituierte ich die verdünnte Kuhmilch mit 2-tägiger Milchkultur oben besprochener Vibrionen, welche, da die Milch nicht geronnen war, von sämtlichen Tieren gierig genommen wurde. Die Plattenkultur, die ich mit derselben Milch angelegt habe, belehrte mich, daß in 1 ccm ca. 120000 Cholerakeime unter vollkommenem Ausschluß sonstiger Keime vorhanden waren.

Die durchschnittlich 140 g Gewicht schweren Tiere bekamen bei dieser allerdings mühsamen Behandlung ein jedes 60—90 cm im Tage, in 8 Rationen geteilt, zu trinken. Am vierten Lebenstage versagten zwei der jungen Hunde die Nahrung und zeigten bereits nachmittags ($8^1/_2$ Stunden nach der letzten Fütterung) profusen Durchfall, während sich die übrigen Tiere der ungestörten Freßlust und des Wohlbehagens erfreuten.

Am fünften Lebenstage waren die obengenannten Tiere bereits tot. Sie zeigten bei der Obduktion intensive Rötung der gesamten Gedärme und in dem Darminhalte große Mengen von Choleravibrionen, nebst einem gasbildenden, stark beweglichen Stäbchen. Die Vibrionen schienen an Virulenz zugenommen zu haben, denn 0,1 ccm einer 2-tägigen Bouillonkultur derselben war im stande, ein 380 g schweres Meerschweinchen bei intraperitonealer Anwendung innerhalb 24 Stunden zu töten.

Obwohl ich die Fütterung mit Cholera infizierter Milch bei den übrigen 6 Tieren noch durch weitere 6 Tage fortsetzte, erkrankte kein einziges und nachdem ich nachher zur Fütterung mit gewöhnlicher Milch überging, gediehen sie vollkommen. Ich habe das Serum

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. No. 2.

jener Tiere auf das Vorhandensein von „Antikörper" zu untersuchen unterlassen, was man mir, nach dem damaligen Stande der Wissenschaft, verzeihen möge.

Erst im Herbste 1892 war ich in der Lage, weitere Versuche anzustellen und verwendete dazu die Cholerakultur, die ich aus meinen eigenen Dejektionen, nach dem überstandenen Anfalle, im November 1892 gewonnen habe [1]). Die Kulturen zeigten eine ziemlich hohe Virulenz, denn 0,01 ccm einer 3-tägigen Bouillonkultur bewirkten den Tod eines 350 g schweren Meerschweinchens bei intraperitonealer Injektion innerhalb 24 Stunden.

Zu meinen Versuchen verwendete ich diesmal Katzen, unter Anwendung des oben besprochenen Versuchsmodus. Von 6 2-tägigen Katzen (Geburt am 6. November 1892) starben am 3. Versuchstage (5. Lebenstage) 2 Stück unter Krämpfen und profusem Durchfall, wobei in dem Darminhalte die Choleravibrionen in Reinkultur nachzuweisen waren. Die überlebenden Tiere entwickelten sich normal und bekamen abwechselnd die Muttermilch zu saugen. Ein gleichzeitig vorgenommener zweiter Versuch, bei welchem die Saugbrüste der Katze reichlich mit Agarkultur von Choleravibrionen bestrichen wurden, mißlang, da dieselbe den Anstrich sofort anstandslos ableckte und jeden Fütterungsversuch bei ihren Jungen mittelst Saugflasche energisch verwehrte. Die beschränkten Räume meines damaligen Laboratoriums zwangen mich angesichts der Verschleppungsgefahr durch die Katze den Versuch abzubrechen, und nachdem ich in einem 3. Versuche bei Anwendung von Choleramilchkulturen bei vollkommenem Abschluß der Muttermilch 7 Stück von 8 an Diarrhöe, bei welchen absolut keine Choleravibrionen nachweisbar waren, verlor, habe ich von weiteren Versuchen an jungen Katzen Abstand genommen und beschloß, die weiteren Versuche an jungen Hunden vorzunehmen.

Am 23. November 1892 habe ich 6 Stück 8 Stunden alte Mischlinge einer Wolfshündin mit einem langhaarigen deutschen Vorstehhunde zu meinen Zwecken, ohne die Mutter, bekommen und fütterte 2 Junge mit einer Milchkultur der im Jahre 1890 gewonnenen Kultur indischer Provenienz, 2 mit einer Milchkultur der aus meinen Dejektionen gezüchteten Vibrionen, und 2 ausschließlich mit Milchkulturen vom Bact. coli comm. Von diesen Tieren gingen die mit der Milchkultur der Vibrionen, die aus meinen Dejektionen stammten, gefütterten am 4. Versuchstage zu Grunde. Die mit indischer Cholera gefütterten blieben vollkommen gesund und nur ein der mit Bact. coli gefütterten Tiere laborierte vom 3. Versuchstage an an vorübergehender Diarrhöe. In dem Darminhalte der 2 gestorbenen jungen Hunde waren die Choleravibrionen in Reinkultur nachweisbar, sie fehlten in den spärlichen Dejektionen der mit Bact. coli gefütterten Tiere, woselbst nur diese Bakteriengattung vertreten war, sie fehlten endlich in dem Darminhalte eines der absichtlich getöteten jungen Hunde, die ausschließlich mit der indischen Cholera gefüttert wurden.

---

1) Karliński, Kleine Beiträge zur Aetiologie der Cholera. (Wiener medicin. Wochenschr. 1894. No. 7 ff.)

Dieser Versuch war insofern interessant, daß, obwohl die Tiere sämtlicher Gruppen zusammen waren und sich abwechselnd ableckten, eine Mischung der Infektionsstoffe nicht stattfand, und daß die aus dem Darminhalte der zu Gruppe II gehörigen verendeten Jungen gewonnenen Reinkulturen eine bedeutende Abnahme von Virulenz aufwiesen, indem erst 0,6 ccm einer 2-tägigen Bouillonkultur bei einem Meerschweinchen von 400 g als Dosis letalis minima bei intraperitonealer Injektion anzusehen war.

Den nächsten Versuch konnte ich erst beinahe 1 Jahr später ausführen und zwar Ende September 1893, als ich unmittelbar von meiner Dienstreise aus Arabien und Kleinasien zurückgekehrt, zur Bekämpfung der in Nordbosnien ausgebrochenen Cholera abkommandiert wurde. Am 27. September 1893 isolierte ich in Brčka aus den Dejektionen eines Cholerakranken mittelst Alkali-Albuminat-Gelatineplatten bereits nach 8 Stunden Choleravibrionen, welche in der Menge von 0,1 ccm einer 8-stündigen Peptonwasserkultur ein Meerschweinchen von 350 g binnen 21 Stunden bei intraperitonealer Anwendung töteten. Eine gleich große Menge von einer gleich alten Peptonwasserkultur, welche aus Djeddah stammte, und am 3. Juni 1893 isoliert auf Agar üppig wuchs, vermochte ein Meerschweinchen von 365 g Schwere erst nach 28 Stunden zu töten. Ich infizierte nun in kleinen Saugflaschen aufbewahrte Milch mit den in Brčka gewonnenen Choleravibrionen und gab sie am 1. Oktober 1893 vier 2-tägigen jungen Hunden zu saufen. Zwei andere, gleich alte junge Hunde erhielten Milchkulturen von Choleravibrionen, die aus Djeddah stammten. Die Fütterung von seiten der Mutter war gänzlich ausgeschlossen. Von den Versuchstieren der ersten Gruppe gingen nach 24-stündiger Fütterung 2 Stück unter Anzeichen von starkem Durchfall zu Grunde. Zwei andere, anscheinend gesunde, mußte ich am 4. Oktober, als ich plötzlich nach Konstantinopel berufen wurde, um meinen Kollegen keinen Anlaß zur Besorgnis zu geben, mittelst Chloroforminhalation umbringen. In dem Darminhalte der zwei verendeten Tiere konnte ich die verfütterten Vibrionen in Reinkultur nachweisen, sie fehlten gänzlich in dem fast bakterienfreien Darminhalte der zwei getöteten Tiere. Von der zweiten Gruppe ging nach 2-tägiger Fütterung ein Stück zu Grunde; dasselbe wies Krämpfe und Durchfall auf, zeigte intensive Rötung des Dünndarmes und breiigen, fast farblosen Darminhalt, aus welchem die Choleravibrionen unter vollkommenem Ausschluß sonstiger Mikroorganismen gezüchtet wurden. Das zweite Tier dieser Gruppe war noch am 4. Oktober vollkommen gesund, wurde mittelst Chloroform getötet und wies, wenigstens bei mikroskopischer Untersuchung, keine Vibrionen im Darminhalte auf. Eine bakteriologische Untersuchung durchzuführen erlaubte mir die knapp bemessene Zeit nicht.

Als ich im März 1894 Prof. Metschnikow in Paris in seinem Laboratorium einen Besuch abstattete, erwähnte ich gesprächsweise, daß es mir gelungen sei, bei jungen Tieren durch Verfütterung der Vibrionen Cholerainfektion zu erzeugen. Prof. Metschnikow wird sich wohl dieses Gesprächs erinnern, da er mir gelegentlich des Budapester Kongresses im Jahre 1894 gleich nach seiner Ankunft mitteilte, daß ihm eine direkte Infektion durch Verfütterung an junge Tiere nicht gelungen ist.

Einige Wochen später führte mich eine weitere dienstliche Mission von Paris an die montenegrinische Grenze nach Gačko, und da bei den dort unternommenen Untersuchungen von „Milzbrandwiesen“ die plötzlich Anfang Mai eingetretenen Schneefälle eine Unterbrechung in der Bodenuntersuchung verursachten, nahm ich meine Fütterungsversuche an Tieren wiederum auf, umsomehr, als ich über reichliches Material an Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen und Hunden einerseits, und Cholerakulturen verschiedenartigster Provenienz andererseits verfügte. Was die Cholerakulturen anbelangt, so verwendete ich eine von mir in Djeddah 1893 gezüchtete, zwei von verschiedenen Individuen aus Konstantinopel stammende, eine mir von Prof. Metschnikow überlassene Massaua-Vibrionenkultur und eine von Prof. Netter in Paris erhaltene Kultur der Pariser Vibrionen aus der Epidemie des Jahres 1892/93 (Banlieu de Paris). Für die Echtheit der nicht von mir gezüchteten Kulturen bürgt mir der Ruf der Herren, von denen ich die übrigen Kulturen bekam.

Was die Dosis letalis minima der 24-stündigen Peptonwasserkulturen bei 37° C obiger Vibrionen anbelangt, so war dieselbe folgende:

1) Vibrio	Djeddah	(Meerschweinchen	350 g	schwer)	0,3	ccm
2) „	Konstantinopel I	„	„	„	0,2	„
3) „	Konstantinopel II	„	„	„	0,4	„
4) „	Massaua	„	„	„	0,1	„
5) „	Netter	„	360	„	0,7	„

Die Kontrollplatten, welche ich mit gleichen Mengen der Peptonwasserkulturen gleichaltriger Vibrionen aufstellte, belehrte mich, daß die Anzahl der Individuen in 1 ccm fast überall gleich war (wenigstens waren Differenzen von über 1500 pro ccm nicht nachweisbar) und die Unterschiede bestanden nur darin, daß Vibrio 3 und 5 am fünften Tage die Gerinnung der sterilisierten Kuhmilch verursachten [1]) und die Vibrionen 2 und 4 unter gleichen Bedingungen eine viel energischere Cholera-Rot-Reaktion als die übrigen gaben.

Als ich am 2. Mai 1894 einen aus 6 Stück bestehenden Wurf einer Katze für meine Zwecke bekam, verfütterte ich an die 2 Tage alten jungen Tiere Milchkulturen von Vibrionen verschiedenartiger Provenienz.

Zwei junge Katzen der Gruppe I erhielten ausschließlich die 48stündige Kultur der von Prof. Metschnikow erhaltenen Massauavibrionen zu saufen, und tranken von derselben binnen 72 Stunden im ganzen je 170 ccm Milchkultur. Die jungen Katzen verblieben am Leben, zeigten während des Versuches absolut keine Störung der Darmthätigkeit, und in ihren spärlichen Dejektionen waren absolut keine Choleravibrionen nachweisbar.

Zwei junge Katzen der Gruppe II wurden gleichzeitig mit gleichalter Milchkultur der aus Djeddah stammenden Vibrionen gefüttert. Dieselben gingen nach 24 Stunden unter Krämpfen und Durchfall zu Grunde, wiesen zerstreute Rötung einzelner Partieen des Dünndarmes auf und beherbergten im Darminhalte die verfütterten Vibrionen ohne

1) Jedoch nicht konstant, da sie z. B. derzeit dies auch nicht mehr verursachen.

Beimengung sonstiger Mikroorganismen. Eines der verendeten Tiere zeigte nebenbei eine Vergrößerung und Blutüberfüllung der Milz und Leber, aus deren Inhalte, wie auch aus dem Blute, die Choleravibrionen in großer Menge rein gezüchtet werden konnten.

Zwei Tiere der Gruppe III erhielten innerhalb 24 Stunden je 78 ccm einer 2-tägigen Milchkultur der Vibrionen, die ich als Konstantinopel I bezeichne, zu saufen. Von dieser Gruppe ging nach 24 Stunden ein Junges zu Grunde, während sich das zweite, trotz der bis zum 5. Lebenstage fortgesetzten Fütterung, ohne jede Störung normal entwickelte. Das verendete Tier zeigte eine intensive Rötung des Dünndarmes und beherbergte im Darminhalte bei Ausschluß sonstiger Mikroorganismen nur die verfütterten Vibrionen.

Der negative Ausfall des Versuches mit den Massauavibrionen gegenüber den positiven Resultaten der Versuche mit Djeddah- und Konstantinopel-Kulturen veranlaßte mich, bei einem frischen Wurfe junger Kaninchen den Fütterungsversuch aufzunehmen, welcher positiv ausfiel, indem sämtliche (5 Stück) 48 Stunden alte Kaninchen, nachdem dieselben je 40 ccm einer 2-tägigen Massauavibrionenmilchkultur abwechselnd mit der Muttermilch getrunken hatten, an intensivem Durchfalle zu Grunde gingen, intensive Rötung des gesamten Dünndarmes aufwiesen, und sowohl im Darminhalte wie im Blute die verfütterten Vibrionen beherbergten.

Die aus dem Darminhalte der verendeten Kaninchen gezüchteten Vibrionen zeigten eine starke Abnahme der Virulenz, denn erst 0,7 ccm einer 2-tägigen Peptonwasserkultur derselben war imstande, 2 Meerschweinchen von 280 und 340 g bei intraperitonealer Infektion zu töten. Als ich kleine Dosen jener Kulturen in frische Eier übertrug, stieg die Virulenz derselben dermaßen an, daß schon nach einer Woche 0,1 ccm des Eiinhaltes den Tod der Meerschweinchen von 320—370 g Schwere innerhalb 24 Stunden verursachte.

Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurde ein weiterer Wurf von 5 jungen Kaninchen mit einer 2-tägigen Milchkultur der Konstantinopler II-Vibrionen infiziert, und trotzdem die 2-tägigen Jungen innerhalb 24 Stunden je 85 ccm Milchkultur getrunken haben und diese Fütterung durch 6 Tage fortgesetzt wurde, war keine Darmstörung zu konstatieren. Am 10. Lebenstage habe ich sämtliche Jungen geschlachtet, und aus ihrem Blute Serum gewonnen, welches ich zur Prüfung der Virulenz meiner Kulturen folgendermaßen zu verwenden suchte: 0,01 ccm einer eintägigen Peptonwasserkultur wurde mit 1 ccm Peptonwasser und 0,01 ccm des gewonnenen Serums vermengt und einem Meerschweinchen von 240 g intraperitoneal appliziert. Nach einer Viertelstunde wurde das Tier getötet und der Bauchhöhleninhalt auf das Vorhandensein von lebenden Vibrionen untersucht. Ein zweites gleichzeitig mit gleicher Menge der Mischung infiziertes Meerschweinchen wurde am Leben gelassen, um zu sehen, ob das gewonnene Serum die Wirkung der Vibrionen zu paralysieren im stande war. Ich bin überzeugt, daß meine im Jahre 1894 unternommenen Versuche im Vergleich mit der jetzigen Versuchsanordnung nicht einwandfrei waren, um aber die Reihenfolge meiner Versuche festzuhalten, schildere ich die damaligen Ergebnisse:

I. 0,01 ccm Serum + 0,01 ccm Massauakultur + 1 ccm Peptonwasser; im Bauchfellraume massenhaft Vibrionen; zweites Meerschweinchen tot nach 48 Stunden.

II. 0,01 ccm Serum + 0,01 ccm Konstantinopler I-Kultur + 1 ccm Peptonwasser; im Bauchfellraume massenhaft Vibrionen; zweites Meerschweinchen tot nach 40 Stunden.

III. 0,01 ccm Serum + 0,01 ccm Konstantinopler II-Kultur + 1 ccm Peptonwasser; im Bauchfellraume keine beweglichen Vibrionen vorhanden; die einzelnen Vibrionen stark aufgedunsen, unbeweglich, entwickeln sich nicht mehr auf der Gelatineplatte; zweites Meerschweinchen lebt.

IV. 0,01 ccm Serum + 0,01 ccm Djeddah-Kultur + 1 ccm Peptonwasser; im Bauchfellraume sehr wenig lebende Vibrionen; zweites Meerschweinchen tot nach 41 Stunden.

V. 0,01 ccm Serum + 0,01 ccm Paris-Kultur + 1 ccm Peptonwasser; im Bauchfellraume sehr viele Vibrionen; zweites Meerschweinchen tot nach 61 Stunden.

Aus den Ergebnissen dieser Versuchsreihe geht hervor, daß das Blutserum jener Kaninchen gewisse, wenn auch geringe Mengen von Antikörpern enthalten hat, denn dasselbe war im stande, die Virulenz gleicher Menge der Konstantinop. II-Vibrionen aufzuheben und dem Kontrolltiere das Leben zu erhalten. Dieses Serum war jedoch unwirksam gegen gleiche Mengen Kulturen anderer Provenienz, was den jetzigen Ergebnissen R. Pfeiffer's beinahe entspricht.

Weniger erfreulich waren die Resultate, die ich mit Djeddah-Kulturen erhielt. Von einem Wurfe von 5 jungen Schäferhunden, die, vom ersten Lebenstage von der Mutter getrennt, mit 3-tägigen Djeddah-Milchkulturen durch 4 Tage ausschließlich gefüttert wurden, blieben sämtliche Junge am Leben. Drei davon wurden geschlachtet, das gewonnene Serum war jedoch gegen die gleiche Menge einer eintägigen Peptonwasserkultur der Djeddah-Vibrionen vollständig unwirksam, es immunisierte auch nicht in zweifacher und zehnfacher Menge, und war auch wirkungslos gegen Vibrionen anderer Provenienz.

Obwohl die verwendete Kultur gegenüber den Meerschweinchen eine exquisite Virulenz zeigte, habe ich versucht, dieselbe noch zu steigern, indem ich Kulturen durch Eier passieren ließ; ich erhielt jedoch keine zufriedenstellenden Resultate, indem 0,4 ccm des Eiinhaltes erst als Dosis letalis minima bei Meerschweinchen anzusehen waren, während die Peptonwasserkulturen schon in der Dosis von 0,3 ccm die Meerschweinchen töteten.

Im Herbst 1894 habe ich bei Wiederaufnahme meiner Versuche 2 Würfe junge Hunde, 1 Wurf junge Katzen und 2 Würfe Kaninchen mit Choleramilchkulturen gefüttert. Von diesen 28 Tieren gingen nur:

ein Hund, welcher mit Djeddah-Kultur gefüttert war, nach 48 Stunden,

je eine Katze, die mit Djeddah-Kultur und Konstantinop. II gefüttert waren, nach 36 Stunden,

drei Kaninchen, die mit Konstantinopler I-Kultur gefüttert waren, nach 24 Stunden,

ein Kaninchen, welches mit Djeddah-Kultur gefüttert war, nach 30 Stunden,
ein Kaninchen, welches mit Konstantinopel I gefüttert war, nach 40 Stunden,
eine Katze, die mit Konstantinop. I gefüttert wurde, nach 24 Stunden zu Grunde.

Die Massauah- uud Pariser Kulturen erwiesen sich als vollkommen wirkungslos, obwohl sie für Meerschweinchen virulent waren. Im Verlaufe der Versuche gewann ich den Eindruck, daß die zu große Menge der verfütterten Vibrionen an den vielfachen positiven Ergebnissen der Fütterungsversuche schuld war, und als ich im Jahre 1895 junge Tiere durch Verfütterung zu infizieren versuchte, änderte ich einigermaßen den Versuchsmodus, indem ich unmittelbar vor der Fütterung der sterilisierten Milch eine Oese voll einer Peptonwasserkultur zusetzte, und den Gehalt an Vibrionen pro ccm durch Plattenkulturen festzustellen suchte und, da ich annehmen mußte, daß sich dieselben während der Zeit. in der die Tiere nicht saugten, gewiß vermehren würden, untersuchte ich auch den Rest des Inhaltes der Saugflasche auf die Zahl der vorhandenen Keime. Von 22 auf diese Weise infizierten Tieren gingen 12 zu Grunde, und die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenstellen:

I. Eintägiger Schäferhund erhielt innerhalb 24 Stunden 112 ccm infizierter Milch. Die benutzte Kultur war eine 40. Generation der Djeddah-Vibrionen, vor dem Versuche waren 100, im Reste der Saugflasche 241 Vibrionen pro ccm vorhanden.. Das Tier blieb am Leben.

II. Eintägiger Schäferhund gleichen Wurfes erhielt innerhalb 24 Stunden 120 ccm infizierter Milch. Die benutzte Kultur war eine 31. Generation der Konstantinop. I-Vibrionen; vor dem Versuche waren 1000, im Reste der Saugflasche 6500 Keime pro ccm vorhanden. Das Tier verendete nach 26 Stunden, in seinem Darminhalte waren die gefütterten Vibrionen massenhaft vorhanden.

III. Eintägiger Schäferhund gleichen Wurfes erhielt innerhalb 24 Stunden 100 ccm infizierter Milch. Die benutzte Kultur war eine 30. Generation der Konstantinopler II-Vibrionen. Vor dem Versuche waren 1100, in dem Rest der Saugflasche 9000 Keime pro ccm vorhanden. Das Tier blieb am Leben.

IV. Zweitägiger Schäferhund, gleichen Wurfes wie die früheren, erhielt innerhalb 24 Stunden 100 ccm infizierter Milch. Die benutzte Kultur war eine unbestimmbar alte Massauakultur; vor dem Versuche waren 5000, in dem Rest der Saugflasche 24000 pro ccm Keime vorhanden. Das Tier blieb am Leben.

V. Eintägige junge Katze erhielt innerhalb 48 Stunden 116 ccm infizierter Milch. Die benutzte Kultur war dieselbe wie bei IV (Massaua). Vor dem Versuche waren 4000, in dem Rest der Milchflasche 11000 Keime pro ccm vorhanden. Das Tier blieb am Leben.

VI. Eintägige junge Katze gleichen Wurfes erhielt innerhalb 24 Stunden 80 ccm infizierter Milch. Die benutzte Kultur war eine 40. Generation der Djeddahvibrionen; vor dem Versuche waren 1400, im Rest der Saugflasche 9400 Keime pro ccm enthalten. Das Tier

ging innerhalb 31 Stunden zu Grunde, zeigte im Darminhalte massenhaft Vibrionen, Schwellung der Drüsen und punktförmige Blutaustritte am Bauchfell.

VII. VIII. IX. Gleiches Resultat erhielt ich bei drei weiteren jungen Katzen desselben Wurfes, welche innerhalb 24 Stunden 60 bezw. 80 und 85 ccm mit Djeddahvibrionen infizierte Milch zu saufen bekamen. Die Anzahl der vor dem Versuche vorhandenen Keime betrug: 800, 1100 und 2000, gegen 4000, 11000 und 16000 pro ccm im Rest der Saugflasche.

X. XI. XII. Ein negatives Resultat erhielt ich bei 3 jungen eintägigen Pintschern, welche ich mit Milch, die mit Pariser Kulturen infiziert war, bei Ausschluß der Muttermilch fütterte. Obwohl dieselben binnen 3 Tagen 80, bezw. 100 und 110 ccm infizierter Milch pro Tag austranken, und die Anzahl der von dem Versuche vorhandenen Keime zwischen 1000 und 1900 und der im Reste der Saugflaschen vorhandenen zwischen 17000 und 31000 pro ccm variierte.

XIII. XIV. Zwei weitere Junge desselben Wurfes, welche erst vom 4. Lebenstage an mit Djeddahkulturen infizierte Milch zu saufen bekamen, und innerhalb 24 Stunden je 80 ccm Milch von einem Keimgehalte von 2000 vor dem Versuche und 36000 pro ccm im Reste der Saugflasche tranken, gingen nach 36 Stunden unter stürmischer Darmstörung zu Grunde.

XV. XVI. XVII. Drei eintägige Kaninchen gleichen Wurfes wurden mit Milch, welche mit Massauakultur infiziert war, durch 48 Stunden gefüttert. Die Menge der eingeführten Vibrionen betrug bei Beginn des Versuches 600, 800, 1000, 2600, 3000 und 3100 pro ccm, während die Menge bei jedesmaliger Beendigung der Fütterung 9000, 9000, 14000, 16000, 9000 und 18000 pro ccm betrug. Die Durchschnittsmenge der verfütterten Milch betrug pro Stück und Tag 100 ccm. Sämtliche Tiere blieben am Leben.

XVIII. XIX. XX. Drei Kaninchen gleichen Wurfes wurden vom 2. Lebenstage mit einer Mischkultur der Massauavibrionen mit Bact. coli commune gefüttert. Die Menge der Individuen beider Arten verhielt sich wie 1 : 1,2, und die Milch zeigte nach eintägigem Stehen keine Gerinnung. Jedes Tier erhielt 80 ccm Milch pro Tag und sämtliche Tiere gingen innerhalb 36 Stunden zu Grunde. Der gesamte Darmkanal zeigte eine difuse Rötung. Aus dem Darminhalte und der Leber ließen sich beide Arten auszüchten.

XXI. XXII. Von zwei jungen Katzen gleichen Wurfes erhielt eine vom 2. Lebenstage an Milchkultur der Djeddahvibrionen zu trinken und die andere eine Milchkultur gleicher Vibrionen mit dem Zusatze einer Oese voll einer zweitägigen Agarkultur des Bact. coli commune verfüttert. Das erste Tier ging in 24 Stunden und zwar noch während der Fütterung zu Grunde, während das andere erst am 4. Lebenstage unter den bereits geschilderten Symptomen zu Grunde ging.

Die Kaninchen XV, XVI, XVII, welche, die mit Massauavibrionen infizierte Milch anstandslos vertragen haben, und sich normal entwickelten, wurden am 15. Lebenstag geschlachtet und ihr Blutserum auf das Vorhandensein von Antitoxinen geprüft, dasselbe erwies sich

jedoch als wirkungslos gegenüber den Massauavibrionen, obwohl ich diesmal nicht nur gleiche Mengen von Serum und Kulturen zur intraperitonealen Infektion von Meerschweinschen verwendete, sondern auch doppelte, dreifache und zehnfache Mengen des Serums gegen abgemessene Mengen von Kulturen verwendct habe.

Als zu Ende des Jahres 1895 Herr Regimentsarzt Dr. Kamen an dieser Stelle in seiner Publikation „Bakteriologisches aus der Cholerazeit“ Fütterungsversuche an Hausmäusen mit positivem Erfolg beschrieb, versuchte ich mit den mir zur Verfügung stehenden Kulturen Hausmäuse zu infizieren, indem ich denselben Brotkügelchen, welche im Innern abgemessene Mengen von Bouillonreinkulturen hatten, zu fressen gab. Obwohl die verwendeten Djeddah-, Massaua-, Pariser-, Konstantinopeler I-Kulturen gegenüber den Meerschweinchen vollvirulent waren, ging von 20 Mäusen keine einzige zu Grunde. Es krepierte auch keine einzige, als ich statt Bouillonkulturen, Gelatine und Agarkulturen in Anwendung brachte, und sie außerdem mit der Milchkulturen gleichen Vibrionen fütterte. Ebenso verhielten sich Feldmäuse und weiße Mäuse.

Herr Regimentsarzt Dr. Kamen hatte die Güte, mir auf meine Bitte 2 Kulturen der von ihm in der Bukovina gezüchteten Choleravibrionen zuzusenden. Dieselben wuchsen auf den Gelatineplatten und in Stichkulturen äußerst langsam, verflüssigten den Nährboden ebenfalls sehr langsam und erreichten erst nach wiederholter Ueberimpfung das Aussehen der typischen Cholerakulturen. Trotzdem ließ ihre Virulenz nichts zu wünschen übrig, denn 0,1 ccm der eintägigen Peptonwasserkultur war bereits imstande, ein Meerschweinchen von 300 g bei intraperitonealer Injektion binnen 24 Stunden zu töten.

Als ich mit diesen Kulturen Brodstücke, Hafer und Gerste infizierte und gewöhnlichen Hausmäusen zu fressen gab, gingen dieselben binnen 24—36 Stunden zu Grunde. Der Darminhalt beherbergte unzählige Vibrionen, welche ihren kulturellen Merkmalen nach vollständig den eingeführten entsprachen. Feldmäuse und weiße Mäuse widerstanden vollkommen der Infektion und somit muß ich die Kamen'schen Vibrionen als eine Abart der eigentlichen Choleravibrionen betrachten.

Wenn wir die Ergebnisse meiner seit 6 Jahren geführten Versuche zusammenfassen, so wird es in erster Linie auffallen, daß außer jungen Kaninchen und Katzen auch junge Hunde der Infektion per os zugänglich sind. Es sind aber nur gewisse „Rassen“ von Choleravibrionen, bei denen der Versuch positiv ausfällt; ebenso wie es Rassen von Choleravibrionen giebt, welche für junge Katzen und Kaninchen das eine Mal virulent, das andere Mal indifferent wirken. Meine an jungen Katzen und Kaninchen unternommenen Versuche bestätigen, obwohl sie teilweise früher unternommen wurden, die Ergebnisse meines Kollegen Dr. Wiener. (Die Priorität der Publikation überlasse ich ihm herzensgerne.)

Aus meinen Versuchsergebnissen ist wohl zur Genüge ersichtlich, daß die Infektion per os als inkonstant die intraperitoneale Infektion niemals ersetzen wird, und obwohl aus einigen meiner Versuche hervor-

gehen möchte, daß bei der Infektion per os die Bildung von Antikörpern im Serum der Tiere, die dieselbe überstanden haben, eintreten kann, so möchte ich diese Thatsache vorläufig als durch Kontrollversuche nicht genügend bestätigt außer Acht lassen.

Die Schwierigkeiten, mit welchen jedes Privat-Laboratorium und namentlich in so entlegenen Gegenden zu kämpfen hat, mögen entschuldigen, daß obige Publikation selbst dem wohlwollendsten Fachgenossen „unvollendet“ erscheinen muß. Die dienstliche Beschäftigung, die beschränkten Mittel, die Unzulänglichkeit bei der Beschaffung der Litteratur entschuldigen mich gewissermaßen, und wenn ich trotzdem in die „en vogue“ stehende Frage eingreife, so mögen meine „Versuche“ gütigst entschuldigt werden.

Visoko in Bosnien, im Juni 1896.

